

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KUNYIT (*CURCUMA LONGA*) TERHADAP JUMLAH EOSINOFIL DI JARINGAN PARU PADA PENYAKIT ALERGI : STUDI EKSPERIMENTAL PADA MENCIT BALB/C YANG DIINDUKSI OVALBUMIN

Tri Setya Ningrum¹, Suprihati², Yanuar Iman Santosa²

¹Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

²Staf Pengajar Ilmu THT, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang -Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar belakang: Kunyit (*Curcuma longa*) merupakan salah satu rempah yang sering dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Kandungan aktif dari kunyit yaitu *curcumin* mempunyai fungsi sebagai antiinflamasi pada reaksi alergi. Alergi bukan penyakit yang mematikan, tetapi penyakit ini dapat menjadi masalah kesehatan dan sosial ekonomi global.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa pemberian ekstrak kunyit berpengaruh terhadap jumlah eosinofil di jaringan paru mencit BALB/c yang diinduksi ovalbumin.

Metode: Penelitian eksperimental murni dengan rancangan *post test only controlled group design*. Sampel penelitian berupa 18 ekor mencit BALB/c yang dibagi secara acak menjadi tiga kelompok: kontrol negatif, kontrol positif yang diinduksi ovalbumin, dan kelompok perlakuan yang diinduksi ovalbumin dan diberikan ekstrak kunyit dengan dosis 100 mg/kgBB. Pemberian ekstrak dilakukan per oral melalui sonde selama 16 hari. Pada akhir penelitian mencit diterminasi, organ paru diambil untuk dilakukan pemeriksaan histopatologi, dan dilakukan perhitungan jumlah eosinofil di jaringan peribronkhial paru.

Hasil: Hasil penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan perlakuan ($p=0,000$). Rerata jumlah eosinofil lebih tinggi secara bermakna pada kelompok kontrol positif dibandingkan dengan kontrol negatif ($p=0,000$) dan lebih rendah secara bermakna pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kontrol positif ($p=0,016$).

Kesimpulan: Pemberian ekstrak kunyit dapat menurunkan jumlah eosinofil di jaringan paru mencit yang diinduksi ovalbumin.

Kata Kunci: Ekstrak kunyit, eosinofil, mencit model alergi

ABSTRACT

THE EFFECT OF TURMERIC EXTRACT (*CURCUMA LONGA*) ON THE NUMBER OF EOSINOPHILS IN THE LUNG TISSUE ON ALLERGIC DISEASE : EXPERIMENTAL STUDY ON BALB/C MICE INDUCED BY OVALBUMIN

Background: Turmeric (*Curcuma longa*) is a spice that is often used as traditional medicine. The active ingredient of turmeric, curcumin, acts as an anti-inflammatory on the allergic reaction. Allergy is not a deadly disease, but the disease can be a global health and social economic problems.

Aim: This study aimed to prove that turmeric extract influence on the number of eosinophils in the lung tissue of BALB/c mice induced by ovalbumin.

Method: This was a true experimental study with post test only controlled group design. The subjects were 18 BALB/c mice, randomly divided into three groups: a negative control group, a positive control group induced by ovalbumin, and a treatment group induced by ovalbumin and administered with turmeric extract at a dose of 100 mg/kgBW. The extract was orally given with sonde for 16 days. At the end of the study mice were terminated, the lung was taken for histopathological examination, and the number of eosinophils calculated in the peribronkhial tissue of lung.

Result: This study showed significant differences between the negative control group, the positive control group, and the treatment group ($p=0,000$). The mean of the number of eosinophils was significantly higher in the positive control group compared to the negative control group ($p=0,000$) and significantly lower in the treatment group compared to the positive control group ($p=0,016$).

Conclusion: The turmeric extract can reduce the number of eosinophils in the lung tissue of mice induced by ovalbumin.

Keywords: Turmeric extract, eosinophil, mice model of allergy

PENDAHULUAN

Alergi adalah reaksi sistem imun yang berlebihan terhadap suatu antigen tertentu yang kemudian disebut alergen, dan diperantarai oleh antibodi *immunoglobulin E* (IgE).¹ Alergi berhubungan dengan atopi, yaitu suatu kecenderungan genetik untuk memproduksi antibodi IgE yang tinggi sebagai respon terhadap paparan alergen, dan akan bermanifestasi klinis menjadi penyakit alergi salah satunya alergi di saluran pernapasan, yaitu rinitis alergi dan asma.² Rinitis alergi dan asma merupakan penyakit yang saling berkaitan disebut *United Airway Disease*. Kedua penyakit alergi tersebut diperantarai oleh IgE dan dicetuskan oleh alergen yang sama seperti serbuk sari (*pollen*), bulu binatang, dan tungau.³

Alergen yang masuk ke dalam tubuh pada individu atopi dikenali sebagai antigen asing yang akan menggeser respon imun ke arah T_H2 dominan yang memproduksi berbagai sitokin dan mediator inflamasi seperti IL-4, IL-5, IL-13 yang akan meningkatkan produksi IgE dan sel-sel inflamasi, seperti sel mast, neutrofil, dan eosinofil.^{2,4} Eosinofil merupakan sel inflamasi paling dominan yang akan meningkat jumlahnya saat terjadi reaksi alergi dan akan direkrut ke jaringan yang mengalami inflamasi.^{5,6} Paparan ulang alergen di saluran pernapasan akan menyebabkan reaksi inflamasi alergi yang akan menarik eosinofil ke jaringan paru.⁷

Banyak pengobatan yang telah dilakukan untuk mengatasi penyakit alergi, yaitu immunosupresan, antihistamin dan steroid, namun demikian, angka kejadian alergi masih tetap tinggi.^{8,9} Oleh karena itu, perlu dipertimbangkan penggunaan obat herbal untuk mengatasi alergi.

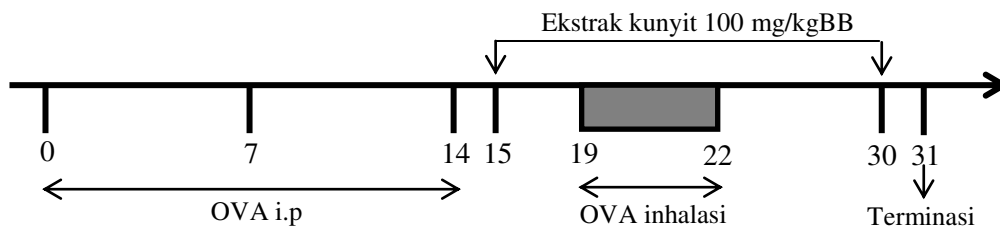
Kunyit (*Curcuma longa*) merupakan salah satu rempah yang banyak digunakan sebagai bahan makanan dan juga obat tradisional.¹⁰ Kandungan aktif dari kunyit yaitu *curcumin* telah banyak diteliti dan terbukti mempunyai aktivitas biologis sebagai antiinflamasi, antikanker, antioksidan, antidislipidemia dan antidiabetes.^{11,12} *Curcumin* dapat diperoleh dari kunyit yang diekstraksi dengan pelarut etanol.¹³ Banyak studi yang mempelajari manfaat *curcumin* sebagai antiinflamasi pada reaksi alergi, yaitu dengan ditandai adanya penurunan jumlah sel inflamasi eosinofil di jaringan pada mencit model alergi yang diberikan *curcumin*.^{14,15} Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak kunyit (*Curcuma longa*) terhadap jumlah eosinofil di jaringan paru hewan coba model alergi.

METODE

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental murni dengan rancangan *post test only controlled group design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Negeri Semarang untuk perlakuan hewan coba dan Laboratorium Patologi Anatomi RSUP Dr. Kariadi untuk pembuatan dan pemeriksaan preparat histopatologi.

Sampel yang digunakan adalah mencit BALB/c betina berusia 6 – 8 minggu dengan berat badan 20 – 25 gram, aktif, dan tidak terdapat kelainan anatomi. Mencit dikelompokkan secara acak menjadi tiga kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (K) yang hanya diberikan makan minum standar, kelompok kontrol positif (K1) yang diinduksi ovalbumin, dan kelompok perlakuan (P) yang diinduksi ovalbumin dan diberikan ekstrak kunyit.

Induksi awal dilakukan dengan pemberian 10 µg ovalbumin (*Grade V, Sigma Aldrich*) dan adjuvan 2 mg Al(OH)₃ (*Sigma Aldrich*) dalam 0,2 cc normal salin secara intraperitoneal pada hari ke-0, 7 dan 14. Selanjutnya diberikan paparan ulang ovalbumin 1% melalui inhalasi menggunakan nebulizer Omron pada hari ke-19 sampai 22 selama 30 menit per hari. Ekstrak kunyit diberikan secara oral melalui sonde lambung pada kelompok perlakuan dengan dosis 100 mg/kgBB per hari selama 16 hari yaitu pada hari ke-15 sampai 30.



Gambar 1. Skema induksi ovalbumin dan pemberian ekstrak kunyit

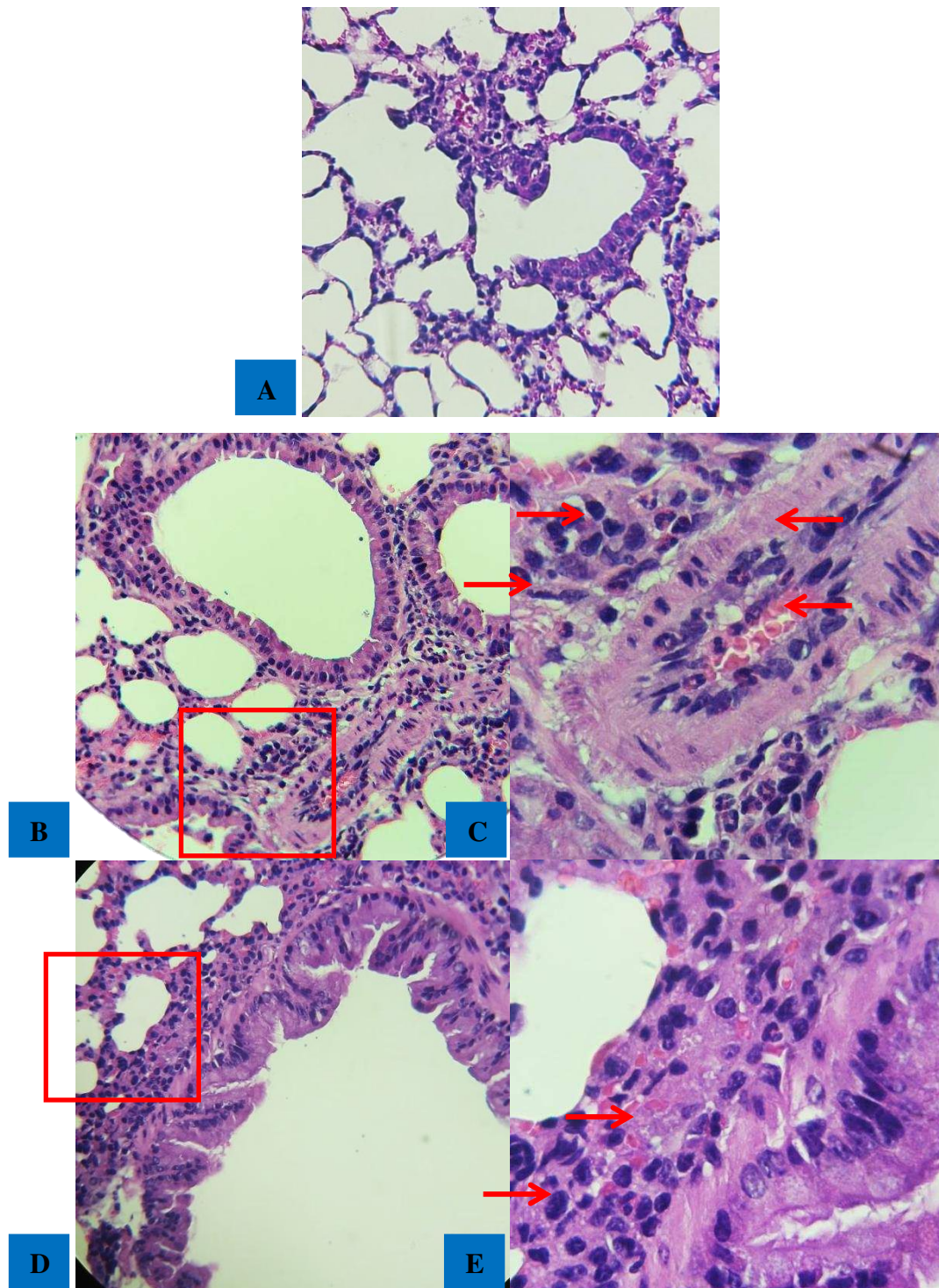
Pada akhir penelitian hari ke-31, semua kelompok mencit diterminasi dengan metode dislokasi sendi atlantooksipital dan diambil organ parunya. Organ paru difiksasi dengan *buffered neutral formalin* (BNF) selama 24 jam, kemudian dilakukan pembuatan blok parafin. Setelah itu, blok parafin dipotong menggunakan mikrotom dan diletakkan pada objekglass. Sediaan diwarnai dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE). Preparat yang sudah jadi diperiksa di bawah mikroskop cahaya pada perbesaran 100x untuk menentukan lapangan pandang yang akan diamati, perbesaran 400x untuk mengamati gambaran histopatologi paru dan menghitung jumlah eosinofil di jaringan peribronkhial paru sebanyak lima lapangan pandang, dan konfirmasi dengan perbesaran 1000x untuk identifikasi eosinofil.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak kunyit, sedangkan variabel terikatnya adalah jumlah eosinofil di jaringan paru mencit BALB/c. Data yang diambil adalah data primer yang diperoleh langsung dari perhitungan jumlah eosinofil di jaringan peribronkhial paru. Selanjutnya data dianalisis statistik menggunakan program komputer.

HASIL

Penelitian ini dilakukan selama 30 hari yang berlangsung pada awal bulan Mei sampai dengan awal bulan Juni. Sampel pada penelitian ini yang awalnya berjumlah 18 ekor mencit BALB/c, saat penelitian berlangsung terdapat 1 mencit pada masing-masing kelompok yang mati pada minggu kedua penelitian, sehingga hanya tersisa 5 ekor mencit tiap kelompok yang diterminasi setelah akhir penelitian, kemudian diambil organ paru dan dilakukan pembuatan preparat histopatologi.

Preparat histopatologi yang telah diberi pewarnaan HE diperiksa dengan mikroskop cahaya pada perbesaran 400x untuk dilakukan perhitungan jumlah eosinofil di jaringan peribronkhial paru. Hasil pengamatan preparat histopatologi dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. (A) Tidak terdapat infiltrasi eosinofil pada kelompok kontrol negatif (perbesaran 400x). (B) Terdapat infiltrasi eosinofil pada kelompok kontrol positif (kotak merah)(perbesaran 400x). (C) Identifikasi eosinofil pada kelompok kontrol positif (perbesaran 1000x). (D) Terdapat infiltrasi eosinofil yang minimal pada kelompok perlakuan (kotak merah)(perbesaran 400x). (E) Identifikasi eosinofil pada kelompok perlakuan (perbesaran 1000x).

Data primer yang diperoleh dari hasil perhitungan jumlah eosinofil di jaringan peribronkhial paru selanjutnya dianalisis dan disajikan dalam rerata dan simpang baku untuk setiap kelompok. Hasil analisis perhitungan jumlah eosinofil disajikan pada Tabel 1.

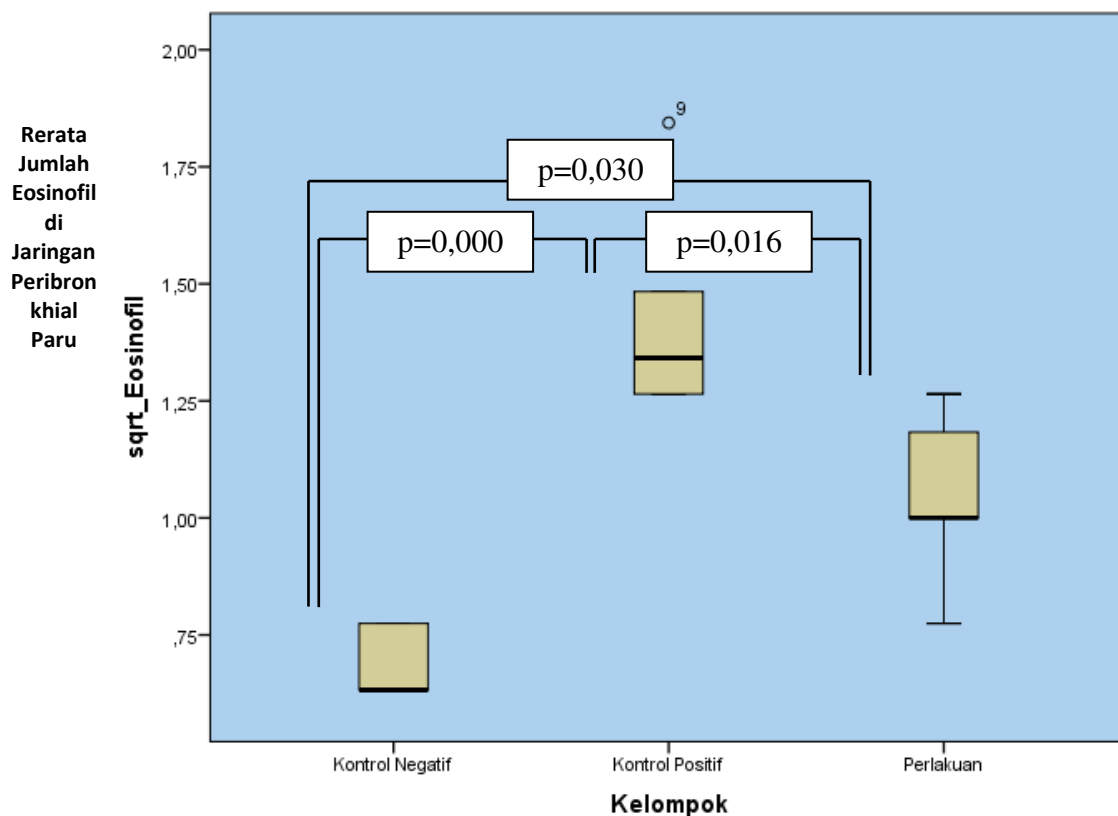
Tabel 1. Hasil Perhitungan Jumlah Eosinofil di Jaringan Peribronkhial Paru

Kelompok	Rerata \pm SB
Kontrol Negatif	0,48 \pm 0,11
Kontrol Positif	2,12 \pm 0,76
Perlakuan	1,12 \pm 0,39

SB=Simpang Baku

Tabel di atas menunjukkan bahwa rerata jumlah eosinofil pada kelompok kontrol positif lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, sedangkan ditemukan rerata jumlah eosinofil pada kelompok perlakuan lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol positif.

Setelah dilakukan uji normalitas *Shapiro-Wilk* dan homogenitas *Levene* ditemukan distribusi data tidak normal dan varian datanya homogen, kemudian dilakukan transformasi data menggunakan fungsi *squareroot* sehingga didapatkan distribusi normal dan varian datanya homogen. Selanjutnya dilakukan uji *One-Way ANOVA* dan didapatkan perbedaan yang bermakna pada ketiga kelompok ($p=0,000$), kemudian dilanjutkan uji *Post Hoc* untuk mengetahui perbedaan antarkelompok. Hasil analisis terhadap rerata jumlah eosinofil antarkelompok dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. *Boxplot* Perbandingan Rerata Jumlah Eosinofil di Jaringan Peribronkhial Paru AntarKelompok

Hasil analisis pada gambar di atas menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara rerata jumlah eosinofil pada kelompok kontrol positif dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif ($p=0,000$), kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol positif ($p=0,016$), dan kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif ($p=0,030$).

PEMBAHASAN

Reaksi alergi terjadi akibat adanya paparan suatu antigen atau alergen pada individu atopi yang menimbulkan respon imun yang berlebihan (reaksi hipersensitivitas).¹ Ovalbumin merupakan protein utama dari putih telur yang dapat berperan sebagai alergen, dan biasanya digunakan untuk mencetuskan reaksi alergi pada hewan coba.¹⁶

Jumlah eosinofil yang lebih tinggi secara bermakna antara kelompok kontrol positif yang diinduksi ovalbumin dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yang tidak diinduksi ovalbumin ($p=0,000$) menunjukkan bahwa sensitisasi terhadap ovalbumin berhasil dan terjadi inflamasi alergi di saluran pernapasan mencit.

Induksi ovalbumin secara intraperitoneal akan menyebabkan sensitisasi alergi sistemik, akibat terjadinya pergeseran respon imun ke arah ke arah T_H2 dominan.¹⁷ Sel T_H2 akan menghasilkan beberapa sitokin, yaitu IL-4, IL-13 dan IL-5. Sitokin IL-4 dan IL-13 menstimulasi sel B untuk memproduksi IgE spesifik, yang pada individu normal memproduksi IgM (*isotype switching*).² Paparan ulang ovalbumin melalui inhalasi akan menyebabkan inflamasi alergi di saluran pernapasan, dengan stimulasi IL-5 yang diproduksi T_H2 meningkatkan infiltrasi eosinofil.¹⁴ Eosinofil merupakan sel yang banyak ditemukan di jaringan terutama saat terjadi proses inflamasi pada reaksi alergi, sehingga sel ini dapat ditemukan di jaringan peribronkhial paru pada mencit alergi yang diberi paparan ovalbumin melalui inhalasi.^{2,18}

Jumlah eosinofil yang lebih rendah secara bermakna pada kelompok perlakuan yang diinduksi ovalbumin dengan pemberian ekstrak kunyit dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yang hanya diinduksi ovalbumin ($p=0,016$) menunjukkan bahwa ekstrak kunyit terbukti dapat menurunkan inflamasi pada reaksi alergi.

Komponen aktif *curcumin* yang terdapat pada kunyit dapat diperoleh dari proses ekstraksi dengan pelarut etanol.¹³ *Curcumin* dari ekstrak kunyit dapat menurunkan produksi sitokin IL-5 dari T_H2 dan meningkatkan produksi IFN- γ dari T_H1 yang menghambat aktivitas sitokin-sitokin T_H2 .¹⁷ IL-5 akan menstimulasi pengrekrutan eosinofil ke jaringan yang mengalami inflamasi melalui proses kemotaksis.⁵ Selain itu, IL-5 merupakan salah satu sitokin yang menstimulasi produksi eosinofil di sumsum tulang.² Apabila aktivitas sitokin IL-5 terhambat akan mengurangi infiltrasi eosinofil ke jaringan dan produksi eosinofil.

Curcumin dapat menghambat reaksi alergi dengan menekan produksi dan pelepasan mediator inflamasi dari sel mast melalui jalur *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK) dengan menekan faktor transkripsi ERK, p38, JNK dan NF- κ B p65, yaitu faktor yang penting dalam pengendalian sintesis dan pelepasan mediator inflamasi oleh sel mast yang diaktifkan selama inflamasi alergi.¹⁵ Oleh karena itu, rekrutmen eosinofil ke jaringan yang mengalami inflamasi dapat terhambat dengan tidak adanya mediator-mediator dari sel mast yang berfungsi menstimulasi proses kemotaksis eosinofil ke jaringan.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Induksi ovalbumin secara intraperitoneal yang dilanjutkan melalui inhalasi pada hewan coba dapat menyebabkan inflamasi alergi, ditandai dengan rerata jumlah eosinofil di jaringan peribronkhial paru pada kelompok kontrol positif yang diinduksi ovalbumin lebih tinggi dibandingkan pada kelompok kontrol negatif yang tidak diinduksi ovalbumin.

Pemberian ekstrak kunyit dapat menurunkan inflamasi pada reaksi alergi, ditandai dengan rerata jumlah eosinofil di jaringan peribronkhial paru pada kelompok perlakuan yang diinduksi ovalbumin kemudian diberikan ekstrak kunyit lebih rendah dibandingkan pada kelompok kontrol positif yang hanya diinduksi ovalbumin.

Saran

Perlu dilakukan penelitian menggunakan parameter lain selain jumlah eosinofil di jaringan paru seperti pemeriksaan sitokin dan mediator inflamasi lain yang berperan pada reaksi alergi. Selain itu, karena pada penelitian ini hanya menggunakan ekstrak kunyit dosis tunggal sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan dosis bertingkat untuk memperoleh dosis optimal yang dapat diterapkan pada manusia untuk menunjukkan potensi ekstrak kunyit sebagai terapi alergi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Levinson W. Hypersensitivity (Allergy). In: Review of Medical Microbiology and Immunology. Vol 1. 13th ed. San Francisco: McGraw-Hill Education; 2014:1195-202.
2. Abbas AK, Lichtmann AH, Pillai S. Allergy. In: Cellular and Molecular Immunology. 8th ed. Elsevier Inc.; 2015. p. 417-34.
3. Feng CH, Miller MD, Simon RA. The united allergic airway: connections between allergic rhinitis, asthma, and chronic sinusitis. Am J Rhinol Allergy. 2012; 26(3):187-90.
4. Mandhane SN, Shah JH, Thennati R. Allergic rhinitis: An update on disease, present treatments and future prospects. Int Immunopharmacol. 2011;11(11):1646-62.
5. Lowe JS, Anderson PG. Stevens & Lowe's Human Histology. 4th ed. Elsevier Health Sciences; 2014.
6. Amini-Vaughan ZJ, Martinez-Moczygemba M, Huston DP. Therapeutic strategies for harnessing human eosinophils in allergic inflammation, hypereosinophilic disorders, and cancer. Curr Allergy Asthma Rep. 2012; 12(5):402-12.

7. Braunstahl GJ, Overbeek SE, KleinJan A, Prins JB, Hoogsteden HC, Fokkens WJ. Nasal allergen provocation induces adhesion molecule expression and tissue eosinophilia in upper and lower airways. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;107:469-76.
8. Pawankar R, Canonica GW, Holgate ST, Lockey RF. Introduction and Executive Summary: Establishing the need to treat Allergic Diseases as a Global Public Health issue. In: WAO White Book on Allergy. ; 2011:11-20.
9. Min Y-G. The Pathophysiology, Diagnosis and Treatment of Allergic Rhinitis. *Allergy, Asthma Immunol Res*. 2010; 2(2):65-76.
10. Bermawie N, Rahardjo M. Status Teknologi Budidaya dan Pasca Panen Tanaman Kunyit dan Temu Lawak sebagai Penghasil Kurkumin. 2013:5-6.
11. Chattopadhyay I, Biswas K, Bandyopadhyay U, Banerjee RK. Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. *Curr Sci*. 2004;87(1):44-53.
12. Kumar N, Sakhya SK. Ethnopharmacological Properties of *Curcuma longa*: A Review. *Int J Pharm Sci Res*. 2013; 4(1):103-12.
13. Bagchi A. Extraction of Curcumin. *J Environ Sci Toxicol Food Technol*. 2012;1(3):1–16.
14. Subhashini, Chauhan PS, Kumari S, Kumar JP, Chawla R, Dash D, et al. Intranasal curcumin and its evaluation in murine model of asthma. *Int Immunopharmacol*. 2013; 17(3):733-43.
15. Zhang N, Li H, Jia J, He M. Anti-inflammatory effect of curcumin on mast cell-mediated allergic responses in ovalbumin-induced allergic rhinitis mouse. *Cell Immunol*. 2015.
16. Huntington JA, Stein PE. Structure and properties of ovalbumin. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*. 2001; 756(1-2):189-98.
17. Huntington JA, Stein PE. Structure and properties of ovalbumin. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*. 2001; 756(1-2):189-98.
18. Barlianto W, Slamet M, Kusuma C, Karyono S, Mintaroem K. Pengembangan Model Mencit Alergi dengan Paparan Kronik Ovalbumin. *J Kedokt Brawijaya*. 2007;XXV(6).